

氏 名	小林 遊
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士 甲第694号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成26年 3月10日
学位論文題目	Cell division cycle-associated protein 1 overexpression is essential for the malignant potential of colorectal cancers (結腸・直腸癌における Cell division cycle-associated protein 1 (CDCA1)の過剰発現と癌悪性化における機能の解析)
審査委員	主査 教授 寺田 智祐 副査 教授 杉原 洋行 副査 教授 辻川 知之

論文内容要旨

※整理番号	700	(ふりがな) 氏名	こばやし ゆう 小林 遊
学位論文題目	Cell division cycle-associated protein 1 overexpression is essential for the malignant potential of colorectal cancers (結腸・直腸癌における Cell division cycle-associated protein 1 (CDCA1) の過剰発現と癌悪性化における機能の解析)		
<p><目的> 結腸・直腸癌に対する既存の抗がん薬に加えて、複数の分子標的治療薬が開発されてきたが、その進行例における予後はいまだ良好とは言えない。治療効果の高い、より副作用の少ない治療法の開発を目指して、新しい分子標的治療とともに、バイオマーカーを使用した個別化治療の開発が求められている。結腸・直腸癌の新しいバイオマーカーと、治療標的分子の同定を目的として、本研究を行った。</p> <p><方法> われわれは、独自の遺伝子発現データベースと公的データベースで結腸・直腸癌での発現上昇を認めた Cell division cycle-associated protein 1 (CDCA1) について、8 症例の結腸直腸癌患者から得られた腫瘍組織標本と 10 種類の結腸・直腸癌細胞株から抽出した RNA を PCR 法により解析し、mRNA レベルでの CDCA1 の発現を調べた。また、4 種類の結腸直腸癌細胞株 (HT-29、SW480、SW620、SW948) と抗 CDCA1 抗体を用いてウェスタン・ブロッティング法および免疫細胞化学法による解析を行い、CDCA1 タンパクの発現と細胞内局在を調べた。また、434 症例の結腸・直腸癌患者から得られた腫瘍組織標本を用いて、組織マイクロアレイを構築し、これと抗 CDCA1 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、そのタンパクレベルでの発現と臨床病理学的因子を比較解析した。次に 2 種類の結腸・直腸癌細胞株 (SW480、SW948) に CDCA1 に対する siRNA を導入して CDCA1 の発現を阻害し、これらの細胞の増殖能を MTT アッセイによって解析し、またフローサイトメトリーによる細胞周期の解析、Caspase アッセイ、TUNEL アッセイによるアポトーシスの解析を行った。</p> <p><結果> mRNA レベルでの CDCA1 の発現は、8 症例の腫瘍組織標本中 4 症例で、10 種類の細胞株中 6 種類で認められた。また、CDCA1 タンパクの発現は、HT-29 では認められなかったが、SW480、SW620、SW948 では認められ、免疫細胞化学染色では、CDCA1 タンパクは核及び細胞質にその局在が確認された。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

結腸・直腸癌 434 症例のうち、免疫組織化学染色で CDCA1 タンパクの強陽性症例は 132 例であり、弱陽性は 108 例、陰性は 194 例であった。CDCA1 の強陽性症例は、有意に予後不良であった ($p=0.019$)。SW480、SW948 に CDCA1 に対する siRNA を導入してタンパクレベルでの CDCA1 の発現を抑制し、MTT アッセイにより解析したところ、細胞増殖の抑制が認められた。また、siRNA 導入による CDCA1 の発現を阻害したところ、フローサイトメトリーによる細胞周期の解析において、sub-G1 分画の増加が確認され、一方、Caspase アッセイと TUNEL アッセイでは、それぞれ Caspase 活性の増加、DNA の断片化が確認された。

<考察>

CDCA1 は細胞の有糸分裂の際に動原体と微小管の安定な付着のために機能するタンパクである。CDCA1 の高レベルの発現は非小細胞肺癌の多くの症例で認められ、その予後不良因子であることをこれまでわれわれのグループは報告している。本研究において、CDCA1 の発現は結腸・直腸癌症例の 55.3%で認められ、その有意な予後不良因子であることが示された。また、siRNA による CDCA1 の発現抑制により、結腸・直腸癌細胞株にアポトーシスが誘導されることが示唆された。

<結論>

本研究の結果から、CDCA1 は結腸・直腸癌の増殖もしくは生存に必須の分子であり、診断・予後予測マーカーとして、また治療の標的分子として有用である可能性が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	700	氏名	小林 遊
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>がん薬物療法の分野では、新しいバイオマーカーの同定や、有効性と安全性プロファイルの優れた分子標的抗がん剤の開発など、個別化治療の促進が求められている。本論文では、これまで肺がんなどで癌の悪性度に関わる因子として同定されてきた Cell division cycle-associated protein 1 (CDCA1)に注目し、その結腸・直腸がんにおける機能的役割と臨床的意義について解析し、以下の点を明らかにした。</p> <p>1) 腫瘍組織標本や大腸がんのモデル培養細胞を用いて、CDCA1 タンパクは核及び細胞質に局在している。</p> <p>2) 結腸・直腸癌の腫瘍組織標本(434 症例)で CDCA1 の強陽性と判定された症例は、弱陽性あるいは陰性症例に比べて、有意に予後不良である。</p> <p>3) CDCA1 発現培養細胞において、siRNA によって CDCA1 の発現抑制により、sub-G1 分画の増加とアポトーシスの誘導が起こる。</p> <p>本論文は、CDCA1 は結腸・直腸癌の増殖もしくは生存において必須の分子であり、診断・予後予測マーカーあるいは治療の標的分子として有用であるという新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数542字)</p> <p style="text-align: right;">(平成26年1月30日)</p>			